

# Miocardiompatia Hipertrófica - - Estado da Arte em 2007 [48]

SÍLVIA MONTEIRO, SUSANA COSTA, PEDRO MONTEIRO, LINO GONÇALVES, LUÍS A. PROVIDÊNCIA

Serviço de Cardiologia, Hospitais da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal  
Faculdade de Medicina de Coimbra, Coimbra, Portugal

Rev Port Cardiol 2008; 27 (5): 625-637

## RESUMO

A miocardiopatia hipertrófica (MCH) é uma doença primária do sarcómero, associada a grande heterogeneidade genética e variabilidade da expressão fenotípica, cuja principal complicação é a morte súbita cardíaca (MSC).

Os aspectos genéticos da MCH, bem como a fisiopatologia molecular e as relações genótipo-fenótipo são objecto desta revisão, para uma melhor compreensão da abordagem prática desta população de doentes.

Perante o reconhecimento de que a MCH é uma doença genética, que pode cursar com morte súbita como manifestação inicial, é essencial estabelecer o diagnóstico numa fase precoce, proceder à estratificação de risco e implementação de estratégias de prevenção de MSC, promover o aconselhamento genético do doente e o *screening* dos seus familiares. A detecção de mutações patológicas através da sequenciação progressiva dos genes mais frequentes constitui o método mais eficiente de diagnóstico da MCH, mesmo na ausência de evidência clínica da doença.

A identificação de indivíduos com elevado risco de morte súbita cardíaca (MSC) é um desafio importante na abordagem desta população, uma vez que é possível prevenir a sua ocorrência através da implantação de um sistema cardioversor-desfibrilhador implantável (CDI). A selecção de doentes para a implantação profiláctica destes dispositivos, em particular aqueles que apresentam um único factor de risco *major*, assume de momento alguma controvérsia.

## Palavras-Chave

Miocardiopatia hipertrófica; Doença genética; Sarcómero;  
Morte súbita cardíaca; Cardioversor-desfibrilhador implantável.

## ABSTRACT

### Hypertrophic Cardiomyopathy - State of the Art in 2007

Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is a primary disease of the sarcomere, with considerable genetic heterogeneity and variability in phenotypic expression, whose main complication is sudden cardiac death (SCD).

Genetic aspects of HCM, its molecular pathophysiology and genotype-phenotype relationships are the subject of this review, which is aimed at better understanding of practical management in this patient population.

As HCM is a genetic disease whose initial manifestation can be sudden death, it is essential to establish the diagnosis at an early stage, to proceed with risk stratification and implementation of SCD prevention strategies, and to promote genetic counseling of patients and screening of their families. Detection of pathological mutations through progressive sequencing of the genes most commonly involved is the most efficient way to diagnose HCM, even in the absence of clinical evidence of the disease.

Identification of individuals at high risk of SCD is a major challenge in the management of this population, since SCD can be prevented by use of an implantable cardioverter-defibrillator. The selection of patients for prophylactic implantation of these devices, particularly those who have only one major risk factor, is currently the subject of controversy.

## Key words

Hypertrophic cardiomyopathy; Genetic disease; Sarcomere;  
Sudden cardiac death; Implantable cardioverter-defibrillator

## INTRODUÇÃO

A miocardiopatia hipertrófica (MCH) é a doença genética mais comum entre as doenças cardiovasculares, assumindo uma prevalência de 0,2% na maioria das séries publicadas.<sup>(1,2)</sup> É considerada uma doença do miocárdio, definida por hipertrofia ventricular esquerda (HVE), não explicada por outros mecanismos, nomeadamente hipertensão arterial (HTA), estenose aórtica e amiloidose, tipicamente com distribuição assimétrica e envolvimento do septo interventricular (SIV).<sup>(3-6)</sup> A hipertrofia encontra-se habitualmente associada a perturbação da função diastólica, função sistólica preservada e, em cerca de 25% dos casos, obstrução dinâmica do tracto de saída do ventrículo esquerdo (VE). Apesar da HVE (parede VE  $\geq 15$  mm) constituir a expressão morfológica mais característica da doença, a severidade de apresentação é variável, podendo mesmo existir doença sem hipertrofia detectável.<sup>(3-6)</sup>

Histopatologicamente, a MCH caracteriza-se por hipertrofia e desorganização estrutural dos miócitos, associada a fibrose intersticial.<sup>(3)</sup> O espectro clínico é heterogéneo, desde ausência de sintomas ao longo de toda a vida até sintomas severos como síncope, insuficiência cardíaca congestiva, fibrilhação auricular e morte súbita, por vezes, como primeira manifestação da doença.<sup>(4-6)</sup> A MCH é considerada a principal causa de morte súbita cardíaca (MSC) em indivíduos jovens e em atletas durante o exercício.<sup>(7,8)</sup>

## ASPECTOS GENÉTICOS

A MCH é uma doença familiar em mais de 50% dos casos, com transmissão autossómica dominante e penetrância quase completa, embora dependente da idade e do sexo.<sup>(5,6,9)</sup>

A identificação de um número superior a quatro centenas de mutações diferentes, em 13 genes responsáveis pela codificação de componentes proteicos do sarcómero cardíaco, conduziu à definição da MCH como uma doença primária do sarcómero.<sup>(6,9-19)</sup>

A maior parte das mutações descritas foram identificadas nos seguintes genes: quatro genes codificadores das proteínas do filamento grosso -

## INTRODUCTION

Hypertrophic cardiomyopathy (HCM) is the most common cardiovascular disease of genetic origin, with a prevalence of 0.2% in most published series<sup>(1, 2)</sup>. It is a disease of the myocardium, characterized by left ventricular hypertrophy (LVH) that cannot be explained by other factors such as hypertension, aortic stenosis or amyloidosis, typically distributed asymmetrically and involving the ventricular septum<sup>(3-6)</sup>. The hypertrophy is usually associated with impaired diastolic function, preserved systolic function and, in around 25% of cases, dynamic left ventricular (LV) outflow obstruction. Although LVH (LV wall thickness  $\geq 15$  mm) is the most characteristic morphological expression of the disease, presentation varies considerably in severity and the disease can even be present with no detectable hypertrophy<sup>(3-6)</sup>.

Histopathologically, HCM is characterized by myocyte hypertrophy and disarray, together with interstitial fibrosis<sup>(3)</sup>. There is a wide clinical spectrum, ranging from patients who are asymptomatic throughout their lives to severe symptoms such as syncope, congestive heart failure, atrial fibrillation and sudden death, which can be the first manifestation of the disease<sup>(4-6)</sup>. HCM is the leading cause of sudden cardiac death (SCD) in young people and in athletes during exercise<sup>(7, 8)</sup>.

## GENETIC ASPECTS

HCM is familial in over 50% of cases, with autosomal-dominant inheritance and almost complete penetrance, although influenced by age and gender<sup>(5, 6, 9)</sup>.

Over 400 different mutations have been identified in 13 genes that code for cardiac sarcomere proteins, and thus HCM is considered a primary disease of the sarcomere<sup>(6, 9-19)</sup>.

Most of the mutations have been identified in the following genes: four genes coding for thick filament proteins - the beta and alpha isoforms of the myosin heavy chain (MYH7- $\beta$  and MYH6- $\alpha$ ) and the ventricular myosin regulatory and essential light chains (MYL2 and MYL3); five coding for the structure of the thin filament -  $\alpha$ -actin (ACTC),  $\alpha$ -tropomyosin (TPM1), cardiac troponin T (TNNT2), cardiac troponin I (TNNI3),

Tabela 1. Genes envolvidos na MCH  
Table 1. Genes involved in HCM

Gene	Gene	Símbolo / Symbol	Locus no cromossoma / Chromosomal locus
Cadeia pesada β-miosina	<i>β-myosin heavy chain</i>	MYH7	14q12
Cadeia pesada α-miosina	<i>α-myosin heavy chain</i>	MYH6	14q12
Cadeia leve miosina reguladora	<i>Myosin regulatory light chain</i>	MYL2	12q24.3
Cadeia leve miosina essencial	<i>Myosin essential light chain</i>	MYL3	3p21
α-Actina	<i>α-actin</i>	ACTC	15q14
α-Tropomiosina	<i>α-tropomyosin</i>	TPM1	15q22.1
Troponina T	<i>Troponin T</i>	TNNT2	1q32
Troponina I	<i>Troponin I</i>	TNNI3	19q13.4
Troponina C	<i>Troponin C</i>	TNNC1	3p
Proteína C que liga a miosina	<i>Myosin binding protein C</i>	MYBPC3	11p11.2
Titina	<i>Titin</i>	TTN	2q24.3
Teletonina	<i>Telethonin</i>	TCAP	17q12
Proteína LIM muscular	<i>Muscle LIM protein</i>	CRP3	11p15.1

Adaptado de <sup>(9, 10)</sup>

Adapted from <sup>(9, 10)</sup>

isoformas beta e alfa da cadeia pesada da miosina (MYH7-β e MYH6-α), cadeias leves (reguladora e essencial) da miosina ventricular (MYL2 e MYL3); cinco genes codificadores da estrutura de filamentos finos: α-actina (ACTC), α-tropomiosina (TPM1), troponina T cardíaca (TNNT2), troponina I cardíaca (TNNI3), troponina C (TNNC1); dois genes codificadores de proteínas *assembly*: proteína C que liga a miosina (MYBPC3) e titina (TTN); dois genes codificadores das proteínas da banda Z: teletonina (TCAP) e proteína LIM muscular (CRP3). <sup>(9,10)</sup> Recentemente, foram encontradas mutações raras, em genes que codificam proteínas associadas como a vinculina e a metavinculina. <sup>(20,21)</sup> (Tabela 1)

Os genes da cadeia pesada da beta miosina (MYH7) e da proteína C que liga a miosina (MYBPC3) são responsáveis pela maior parte da população com MCH, cada um deles envolvido em cerca de 30 a 40% dos doentes-índice genotipados. <sup>(6,9,11)</sup> Por seu lado, os genes TNNT2, TNNI3, TPM1, ACTC, MYL2 e MYL3 foram encontrados em 1 a 5% dos casos, <sup>(11-17)</sup> enquanto os restantes foram descritos num número muito reduzido de doentes. <sup>(18,19)</sup> Actualmente, a taxa de detecção de mutações atinge cerca de 60-70% dos doentes-índice estudados. <sup>(9,11)</sup>

Até ao momento, foram identificadas mais de 400 mutações, o que traduz uma heterogeneidade intra-génica importante. <sup>(9,10)</sup>

No gene que codifica a proteína C que liga a miosina, localizado no cromossoma 11, foram

and troponin C (TNNC1); two coding for assembly proteins - myosin binding protein C (MYBPC3) and titin (TTN); and two coding for Z-band proteins - telethonin (TCAP) and muscle LIM protein (CRP3). <sup>(9, 10)</sup> Other, less common mutations have recently been found in genes coding for associated proteins such as vinculin and metavinculin <sup>(20, 21)</sup> (Table 1).

Most patients with HCM have a mutation in the genes for the β-myosin heavy chain (MYH7) or myosin binding protein C (MYBPC3), each of which is involved in 30-40% of genotyped index cases <sup>(6, 9, 11)</sup>. Mutations in TNNT2, TNNI3, TPM1, ACTC, MYL2 and MYL3 have been found in 1-5% of cases <sup>(11-17)</sup>, while the others have been reported in very few cases. The rate of mutation detection is now 60-70% of index cases studied <sup>(9, 11)</sup>.

Over 400 mutations have been identified, reflecting considerable genetic heterogeneity <sup>(9, 10)</sup>.

More than 150 mutations have been detected in the myosin binding protein C gene on chromosome 11. They are found all along the gene and most often result in truncated proteins through deletions, insertions and splice site mutations, missense mutations being uncommon <sup>(9)</sup>. These are the most frequently found mutations (44%), accounting for 26% of cases of HCM <sup>(11)</sup>.

Around 200 mutations have been found in the MYH7 gene on the long arm of chromosome 14. Unlike those in the MYBPC3 gene, these are almost all missense mutations, although some

encontradas mais de 150 mutações, ao longo de todo o gene, cujo mecanismo mais frequente dá origem a proteínas truncadas (delecções, inserções, *splice site mutations*), sendo as *missense mutations* pouco frequentes.<sup>(9)</sup> Estas mutações são as mais frequentemente encontradas (44%), sendo responsáveis por 26% dos casos de MCH.<sup>(11)</sup>

No gene MYH7, localizado no braço longo do cromossoma 14, foram descritas cerca de 200 mutações. Ao contrário das mutações associadas ao gene MYBPC3, estas são quase exclusivamente *missense*, embora algumas delecções do codão tenham sido encontradas (del Lys847, del Glu883, del Glu927, del Glu930).<sup>(9)</sup> As mutações neste gene representam cerca de 40% das mutações identificadas e causam doença em 25% da população com MCH.<sup>(11)</sup>

Nos genes TNNT2 e MYL2 as mutações estão localizadas ao longo de toda a sequência de codificação, no entanto, em TNNT2 todas as mutações, excepto uma, estão localizadas no exão 7 e 8.<sup>(9)</sup>

De acordo com a evidência científica, a taxa de mutações desconhecidas (mutações que não foram previamente identificadas, no entanto, não são consideradas mutações “de novo”) é de 60 a 80% em um dos dois genes - MYH7 e MYBPC3, dependendo da população e do número de doentes-índice testados.<sup>(9)</sup> Desta forma, pode-se especular que a maioria das mutações na MCH são privadas, isto é, apenas relacionadas com uma única família e, raramente, são encontradas em mais de uma família.

Por outro lado, têm sido descritos vários resíduos em cada gene, como sendo *hot spot* para mutações como Arg403, Arg453, Arg663, Gly741, Arg719, Asp778 no gene MYH7; Arg502 e *splice acceptor site variant* IVS20-2: a > g no gene MYBPC3; codão Arg92 no TNNT2 e codão Arg58 no MYL2.<sup>(9)</sup>

## FISIOPATOLOGIA MOLECULAR

O sarcómero apresenta uma estrutura complexa, com múltiplos locais de interacção entre as proteínas constituintes, não tendo sido esclarecida, até ao momento, a forma como uma mutação única do sarcómero conduz à expressão da doença. Têm sido avançados inúmeros mecanismos, nomeadamente ao nível do

codon deletions have been found (del Lys847, del Glu883, del Glu927, and del Glu930) (9). Mutations in this gene account for about 40% of those identified and cause disease in 25% of the HCM population<sup>(11)</sup>.

Mutations in genes TNNT2 and MYL2 are located all along the coding sequence, while in TNNT2 all except one are found in exons 7 and 8<sup>(9)</sup>.

The evidence indicates that the rate of unknown mutations, i.e. those not previously identified but not considered *de novo*, is 60-80% in one of two genes, MYH7 and MYBPC3, depending on the population and index patients tested<sup>(9)</sup>. It may be the case that most mutations in HCM are private, i.e. found in a single family.

However, various residues have been identified in each gene as hot spots for mutations, including Arg403, Arg453, Arg663, Gly741, Arg719, and Asp778 in the MYH7 gene; Arg502 and the splice acceptor site variant IVS20-2: a > g in the MYBPC3 gene; codon Arg92 in TNNT2; and codon Arg58 in MYL2<sup>(9)</sup>.

## MOLECULAR PATHOPHYSIOLOGY

The structure of the sarcomere is complex, with multiple sites of interaction between its constituent proteins, and it is as yet not known how a single mutation can lead to disease expression. Various mechanisms have been suggested, mostly related to the process of muscle contraction. After depolarization, intracellular calcium binds to the troponin complex, enabling the myosin head to bind to actin and, following hydrolysis of adenosine triphosphate (ATP), to move along the thin filament; the thin and thick filaments slide against each other, shortening the sarcomere and leading to muscle contraction. The role of myosin binding protein C is still unclear, but it is presumed to play a part in assembling the thick filament by binding to the myosin heavy chain and titin, and it may also have a regulatory function<sup>(22)</sup>.

Most of the heterozygotic mutations are missense, especially in the MYH7 gene, substituting one amino acid for another and producing a mutant protein. This protein is then incorporated into the sarcomere, where it can interfere with the native protein, acting as a poison polypeptide with a dominant negative

processo da contracção muscular. Depois da despolarização o cálcio intracelular liga-se ao complexo da troponina permitindo que a cabeça da miosina se ligue à actina e, após hidrólise do trifosfato de adenosina (ATP), seja deslocada ao longo do filamento fino; os filamentos finos e espessos deslizam entre si, conduzindo ao encurtamento do sarcómero e consequente contracção muscular. O papel da proteína C que liga a miosina permanece pouco claro, mas presume-se que pode participar na montagem do filamento espesso pela ligação à cadeia pesada de miosina e titina, podendo apresentar ainda alguma função reguladora.<sup>(22)</sup>

A maioria das mutações heterozigóticas é *missense*, especialmente no gene MYH7, e dá origem a uma proteína mutante devido à substituição de um aminoácido por outro. Esta proteína mutante encontra-se incorporada no interior do sarcómero e pode interferir com a proteína nativa, actuando como um polipeptídeo tóxico com efeito dominante negativo.<sup>(23)</sup> O resultado desta incorporação traduz-se em prejuízo da função e/ou montagem anormal do sarcómero, com desorganização miofibrilar.

Por outro lado, a identificação de mutações nulas (*frame-shift* e *non-sense*), particularmente no gene MYBPC3, tem sugerido um mecanismo putativo de haplo insuficiência, pela produção de uma cópia instável e/ou de uma proteína mutilada incapaz de incorporar o sarcómero.<sup>(9)</sup>

Tem-se verificado em alguns modelos de engenharia animal, que a redução da sensibilidade ao cálcio conduz a diminuição da interacção actina-miosina e, consequentemente, a um estado de hipocontractilidade.<sup>(24)</sup> Esta redução da contractilidade promove a produção de cinases sinalizadoras de *stress* e de factores tróficos, que no seu conjunto estimulam a hipertrofia dos miócitos. Esta cronologia é suportada pelo facto do compromisso funcional (anomalia diastólica) preceder o desenvolvimento de hipertrofia.<sup>(25)</sup> De forma contraditória, existem outros modelos associados a elevação da actividade ATPase na miosina e a aumento da interacção actina-miosina, que condicionam aumento da contractilidade dos cardiomiócitos.<sup>(23,26)</sup> A consequência deste ganho de função traduz-se em aumento do trabalho e do consumo de energia, que pode favorecer a depleção de energia, morte de miócitos e substituição por fibrose.

effect<sup>(23)</sup>. The result is abnormal sarcomere function and/or assembly, leading to myofibrillar disarray.

On the other hand, identification of null mutations (frame-shift and nonsense), particularly in MYBPC3, suggests possible haploinsufficiency resulting from the production of an unstable copy and/or a truncated protein that cannot be incorporated into the sarcomere<sup>(9)</sup>.

Studies of animal models have shown that reduced calcium sensitivity results in reduced interaction between actin and myosin and hence hipocontractility<sup>(24)</sup>. This in turn enhances production of stress signaling kinases and trophic factors, which together promote myocyte hypertrophy. This sequence of events is supported by the fact that functional impairment in the form of diastolic dysfunction precedes the development of hypertrophy<sup>(25)</sup>. On the other hand, there are models associated with elevated ATPase activity in myosin and increased actin/myosin interaction, which leads to increased cardiomyocyte contractility<sup>(23, 26)</sup>. The result of this enhanced function is increased work and energy consumption, which could lead to energy depletion and myocyte death and replacement by fibrosis.

It has recently been reported that the overexpression of human mutant cMyBP-C in *Drosophila* is associated with down-regulation of several genes coding for sarcomeric proteins and changes in expression of genes involved in various metabolic pathways that are compatible with the energy depletion hypothesis<sup>(27)</sup>.

The lack of agreement concerning the alterations observed in animal models, and the wide range of different theories that have been put forward to explain them, are proof of the complexity of HCM and the involvement of multiple mechanisms in its pathophysiology.

## GENOTYPE-PHENOTYPE RELATIONSHIPS

The considerable genetic diversity in HCM - both allelic (intra-genic) and non-allelic (inter-genic) - is accompanied by enormous variability in phenotypic expression. Mutations found in HCM are typically private, i.e. they are unique to a single family and the clinical expression (the phenotype) can differ in



Recentemente, foi descrito que a super-expressão do mutante humano cMyBP-C na *Drosophila* está associada a sub-regulação de vários genes codificadores de proteínas do sarcômero e a alteração na expressão dos genes envolvidos em múltiplas vias metabólicas, compatíveis com a hipótese da depleção de energia.<sup>(27)</sup>

As alterações observadas em modelos animais, bem como a diversidade das teorias apontadas revelam a complexidade e o envolvimento de múltiplos mecanismos na fisiopatologia da MCH, ainda não totalmente esclarecida.

## RELAÇÕES GENÓTIPO-FENÓTIPO

A grande diversidade genética da doença - alélica (intragénica) e não-alélica (intergénica) acompanha-se de uma enorme variabilidade da expressão fenotípica. As mutações da MCH são tipicamente “privadas”, isto é, únicas para cada família e a expressão clínica (fenótipo) pode variar em indivíduos da mesma família, portadores da mesma mutação.

Com base em correlações genótipo-fenótipo, surgiu o conceito de que os defeitos genéticos responsáveis pela MCH poderiam ser um dos principais marcadores de prognóstico, existindo mutações específicas que condicionariam um prognóstico favorável (mutações benignas) ou adverso (mutações malignas).<sup>(6,28-30)</sup>

No que diz respeito ao gene MYH7, o fenótipo varia consideravelmente de acordo com as mutações implicadas: mutações como Val606Met são compatíveis com um fenótipo benigno, enquanto Arg403Gln e Arg719Gln estão associadas a sobrevida reduzida, penetrância completa em adultos e alto grau de hipertrofia.<sup>(29-32)</sup>

Na maior parte dos casos, as mutações que ocorrem nos genes MYBPC3 (InsG719) e  $\alpha$ -Tropomiosina (Asp175Asn) conferem um prognóstico favorável.<sup>(6)</sup>

De um modo geral, as mutações no gene TNNT2 estão associadas a um fenótipo severo, relativamente homogêneo entre as mutações e caracterizado por elevada incidência de morte súbita, especialmente em doentes jovens, apesar de hipertrofia de grau moderado.<sup>(29-30)</sup> Estas mutações conferem mau prognóstico,

individuals of the same family with the same mutation.

Based on genotype-phenotype relationships, it became clear that the particular genetic defect responsible for HCM can be an important prognostic marker, since certain mutations have a favorable, or benign, prognosis, while malignant mutations presage a poor outcome<sup>(6, 28-30)</sup>.

For the MYH7 gene, the phenotype varies considerably according to the mutation involved: Val606Met leads to a benign phenotype, while Arg403Gln and Arg719Gln are associated with reduced survival, complete penetrance in adults and a high degree of hypertrophy<sup>(29-32)</sup>.

In most cases, mutations in the MYBPC3 (InsG719) and  $\alpha$ -tropomyosin (Asp175Asn) genes confer a favorable prognosis<sup>(6)</sup>.

Mutations in the TNNT2 gene are usually associated with a severe phenotype that is similar for different mutations and a high incidence of sudden death, especially in younger patients, despite only moderate hypertrophy<sup>(29-30)</sup>. These mutations thus lead to a poor prognosis that is independent of the degree of hypertrophy<sup>(33-34)</sup>. The substrate that promotes ventricular arrhythmias appears to result from the disease's characteristic disarray of the myocardial structure and ultrastructure. Patients with troponin T gene mutations frequently present extensive areas of myocyte disarray, which may be responsible for the malignant arrhythmias that are implicated in cases of sudden death<sup>(34)</sup>.

Besides the causal mutation, other factors can affect the phenotypic expression of HCM, including environmental factors such as exercise and blood pressure, and the individual's other genetic characteristics such as modifying genes. Among the latter, multiple polymorphisms, especially those linked to the renin-angiotensin-aldosterone system, appear to play an important role<sup>(35)</sup>. The influence of modifying genes on morphologic expression appears clear from the considerable variability in disease expression in individuals from the same family with the same mutations.

Given our present knowledge, it would be premature to draw firm conclusions concerning the relationships between particular gene mutations and specific phenotypes, since the available clinical data are based on particular mutations in the very small number of families that have been genotyped.

independentemente do grau de hipertrofia evidenciado.<sup>(33,34)</sup> O substrato favorecedor da ocorrência de arritmias ventriculares parece estar relacionado com a desorganização estrutural e ultraestrutural do miocárdio, o chamado *disarray* característico da doença. Os doentes portadores de mutações no gene da troponina T, com frequência, apresentam extensas áreas de desorganização estrutural miocitária, que poderão ser responsáveis pela ocorrência de arritmias malignas, implicadas nos casos de morte súbita.<sup>(34)</sup>

Para além da mutação causal, existem outros factores com capacidade de modular o fenótipo, que parecem estar implicados na expressão fenotípica da MCH. Estes factores podem ser ambientais (exercício e tensão arterial) ou podem estar relacionados com as características genéticas do indivíduo - genes modificadores, nos quais múltiplos polimorfismos genéticos, em particular relacionados com o sistema renina-angiotensina-aldosterona, parecem ter um papel relevante.<sup>(35)</sup> A magnitude do efeito dos genes modificadores na expressão morfológica pode ser inferida pela grande variabilidade na expressão da doença entre indivíduos afectados da mesma família, portadores de mutações idênticas.

No estado actual do conhecimento, parece prematuro retirar conclusões definitivas acerca da relação entre um gene ou mutação e um fenótipo específico, uma vez que os dados clínicos disponíveis são baseados na presença de mutações particulares, de um número muito reduzido de famílias genotipadas.

## ABORDAGEM DO DOENTE NA PRÁTICA CLÍNICA

Apesar de todos os avanços no conhecimento das bases genéticas da MCH, é fundamental definir qual a melhor estratégia a implementar na abordagem desta população de doentes, de forma a englobar os novos conceitos.

O reconhecimento de que a MCH é uma doença genética, que pode cursar com morte súbita como manifestação inicial, coloca alguns problemas do foro ético e clínico difíceis de solucionar, na abordagem prática destes doentes. Neste contexto, é essencial estabelecer o diagnóstico numa fase precoce, proceder à estratificação de risco e implementação de

## PATIENT MANAGEMENT IN CLINICAL PRACTICE

It is essential to decide on the optimum strategy for patient management in light of the considerable advances in our knowledge of the genetic basis of HCM.

The fact that it is a genetic disease whose initial manifestation can be sudden death poses ethical and clinical problems in the management of HCM patients. It is thus essential to establish the diagnosis at an early stage, to proceed with risk stratification and implementation of SCD prevention strategies, and to promote genetic counseling of patients and screening of their families.

LVH on transthoracic echocardiography is the most common diagnostic criterion, although genotype-phenotype correlations have shown that an HCM mutation can be present with virtually any wall thickness, including normal values<sup>(4-6, 36, 37)</sup>.

DNA testing that detects pathological mutations is thus the only way of establishing a definitive diagnosis of HCM, even in the absence of clinical manifestations of the disease. Genetic testing has so far been limited in clinical practice, due to the disease's genetic heterogeneity and the low prevalence of each mutation and to the complexity of the laboratory techniques involved. Molecular analysis is carried out in only a few specialist research laboratories, since the processes are costly and time-consuming and are not subsidized by state health care systems. Nevertheless, there is ample evidence that routine sequencing of the most important genes is clinically justified.

Given the disease's genetic heterogeneity - there is no predominant mutation in any of the causal genes - molecular diagnosis of a given index patient should begin with direct sequencing of the two most commonly involved genes, MYH7 and MYBPC3, each of which is responsible for around 40% of known mutations<sup>(9)</sup>. If no mutation is found in these two genes, sequencing of TNNT2, TNNI3, MYL2, MYL3, TPM1 and ACTC is indicated, which would identify another 10-20% of mutations<sup>(11, 36, 37)</sup>. Screening of other genes is not recommended as routine practice.

Mutations have not been identified in 30-50% of the families with HCM that have

estratégias de prevenção de MSC, promover o aconselhamento genético do doente e o *screening* dos seus familiares.

A HVE detectada por ecocardiografia transtorácica constitui o critério de diagnóstico mais vulgar da doença, embora correlações genótipo-fenótipo tenham mostrado que, virtualmente, qualquer espessura (incluindo valores dentro do limite da normalidade) pode ser compatível com a presença de um gene mutante da MCH.<sup>(4-6,36,37)</sup>

Desta forma, a análise laboratorial de ácido desoxirribonucleico (ADN) é o único método que permite o diagnóstico definitivo de MCH pela detecção de mutações patológicas, mesmo na ausência de evidência clínica da doença. A realização dos testes genéticos tem sido limitada na prática clínica, devido a dificuldades inerentes à própria doença (heterogeneidade genética e baixa prevalência de cada mutação) e dificuldades metodológicas relacionadas com a complexidade das técnicas laboratoriais envolvidas. Até ao momento, as análises moleculares têm sido realizadas num pequeno número de laboratórios orientados para a investigação, uma vez que envolvem processos dispendiosos, demorados e não comparticipados pelos sistemas de saúde. No entanto, existem múltiplas evidências e aplicações clínicas que justificam a sequenciação de rotina dos genes mais relevantes.

Tendo em conta a heterogeneidade genética e o facto de não existir uma mutação predominante em cada um dos genes causais, a estratégia molecular para o diagnóstico de um doente-índice deverá ser baseada na sequenciação directa dos dois genes mais frequentemente envolvidos, MYH7 e MYBPC3, cada um responsável por cerca de 40% das mutações conhecidas.<sup>(9)</sup> No caso de nenhuma mutação ser encontrada nestes dois genes, está indicada a sequenciação de TNNT2, TNNI3, MYL2, MYL3, TPM1 e ACTC, que permite a identificação adicional de 10 a 20% das mutações.<sup>(11,36,37)</sup> O *screening* de outros genes não é recomendado nos cuidados de rotina.

Não tem sido possível detectar mutações em cerca de 30 a 50% das famílias com MCH estudadas.<sup>(4,5,37)</sup> Este facto, não exclui o diagnóstico da doença, mas sugere que provavelmente estará envolvido um gene adicional ainda não descrito. Nestes casos,

been studied<sup>(4, 5,37)</sup>. This does not exclude diagnosis of the disease, but suggests that another gene, as yet unidentified, is involved. In such cases, it is important to exclude pathologies that can mimic HCM, including metabolic cardiomyopathies, Anderson-Fabry disease caused by  $\alpha$ -galactosidase gene mutations<sup>(38)</sup>, LVH associated with Wolff-Parkinson-White syndrome caused by mutation in the gene coding for the  $\gamma 2$  regulatory subunit of activated AMP kinase (PRKAG2)<sup>(39, 40)</sup>, and X-linked HCM (Danon's disease) caused by mutations in the lysosome-associated membrane protein (LAMP2) gene<sup>(41)</sup>.

When a mutation is identified in an index patient, genetic study of all family members is relatively simple and inexpensive. Testing should be recommended for apparently healthy individuals to see if they are carriers; if not, the risk of developing the disease or transmitting it to their children can be excluded. They are thus spared the need for clinical monitoring and anxiety about the disease developing.

If genetic testing is not available, clinical screening of family members should include annual monitoring between the ages of 12 and 18, with clinical history, physical examination, 12-lead ECG and transthoracic echocardiogram<sup>(4-6, 36, 37)</sup>. Given the possibility of late development of LVH, assessment every five years is currently recommended for adults with no echocardiographic evidence of the disease. Children under 12 years of age are not usually screened except when there is a family history of high risk or the child takes part in competitive sporting activities<sup>(6)</sup>.

## RISK STRATIFICATION AND PREVENTION OF SUDDEN CARDIAC DEATH

Identification of individuals at high risk of SCD is a major challenge in the management of this population, since SCD can be prevented by the use of an implantable cardioverter-defibrillator (ICD)<sup>(42, 47)</sup>.

SCD is the most feared complication of HCM, and can be the initial manifestation of the disease in asymptomatic individuals, many of them adolescents and young adults<sup>(3, 7, 8, 43)</sup>. It should, however, be noted that patients at high



deve ser também excluída a presença de patologias com capacidade de mimetizar a MCH: miocardiopatias metabólicas, doença de Anderson-Fabry devido a mutações no gene da  $\alpha$ -galactosidase, <sup>(38)</sup> HVE associada a síndrome de Wolff-Parkinson-White devido a mutação na subunidade reguladora  $\gamma 2$  da proteína cinase adenosina monofosfato-activada (PRKAG2) <sup>(39,40)</sup> e MCH ligada ao cromossoma X (doença de Danon) relacionada com mutações no gene da proteína de membrana associada ao lisossoma (LAMP2). <sup>(41)</sup>

A identificação de uma mutação num doente-índice permite definir, de forma eficiente e pouco dispendiosa, o estado genético de todos os membros da família. O teste genético deve ser aconselhado aos familiares aparentemente saudáveis, de modo a determinar se são portadores da mutação. Na ausência da mutação, é possível excluir o risco de desenvolver ou transmitir a doença aos descendentes, tornando desnecessário o seguimento clínico destes indivíduos e evitando a ansiedade relacionada com a incerteza da manifestação da doença.

Nos casos em que o diagnóstico genético não está acessível, o *screening* clínico dos familiares deverá incluir observação anual durante a adolescência (12-18 anos), com realização de história clínica, exame físico, electrocardiograma de doze derivações e ecocardiograma transtorácico. <sup>(4-6,36,37)</sup> Tendo em conta a possibilidade de manifestação tardia da HVE, actualmente preconiza-se a avaliação a cada 5 anos dos indivíduos adultos, sem evidência ecocardiográfica da doença. O *screening* em idades inferiores a 12 anos não é habitual, a não ser que a criança tenha uma história familiar de elevado risco ou esteja envolvida em desportos competitivos intensos. <sup>(6)</sup>

## ESTRATIFICAÇÃO DE RISCO E PREVENÇÃO DA MORTE SÚBITA CARDÍACA

A identificação de indivíduos com elevado risco de MSC é um desafio crucial na abordagem de doentes com MCH, uma vez que é possível prevenir a sua ocorrência através da implantação de um sistema cardioversor-desfibrilhador implantável (CDI). <sup>(42-47)</sup>

A MSC é a complicação mais temida da MCH,

risk of SCD are a small minority of the HCM population <sup>(3, 43)</sup>.

Complex ventricular tachyarrhythmias arising from an electrically unstable myocardial substrate are regarded as the most common mechanism of SCD <sup>(45, 46)</sup>. A study of the main arrhythmias found on Holter ECG monitoring of 178 HCM patients showed a particularly high prevalence of ventricular and supra-ventricular tachyarrhythmias <sup>(45)</sup>. Premature ventricular depolarization was detected in 88% (of whom 12% had more than 500 complexes), ventricular couplets in 42%, supraventricular tachycardia in 37% and nonsustained ventricular tachycardia in 31%.

The evidence indicates that most patients at high risk of SCD can be identified by risk factors, since very few (about 3%) suffer sudden death in the absence of these clinical markers <sup>(43)</sup>.

Markers used to define SCD risk include previous cardiac arrest due to ventricular fibrillation or spontaneous sustained ventricular tachycardia; premature HCM-linked sudden death in a close relative or multiple sudden deaths in the same family; episodes of nonsustained ventricular tachycardia for at least 3 beats with a heart rate of at least 120 bpm on 24-hour Holter monitoring; unexplained syncope, particularly in younger patients, recurring, and associated with exercise; abnormal blood pressure response during exercise; and severe LVH ( $\geq 30$  mm), particularly in younger patients. Identification of a high-risk mutation, evidence of atrial fibrillation, myocardial ischemia or LV outflow chamber obstruction, and intense physical exercise, should also be taken into consideration in SCD risk stratification (Table II) <sup>(6)</sup>.

Table II. Risk Factors for SCD in HCM patients <sup>(6)</sup>

Major risk factor	Case-by-case assessment
Cardiac arrest (ventricular fibrillation)	Atrial fibrillation
Spontaneous sustained ventricular tachycardia	Myocardial ischemia LV outflow obstruction
Family history of premature sudden death	High-risk mutation Intense (competitive) physical exercise
Unexplained syncope	
LVH $\geq 30$ mm	
Abnormal blood pressure response during exercise	
Nonsustained ventricular tachycardia on Holter monitoring	

podendo ocorrer como apresentação inicial da doença em indivíduos assintomáticos e, com frequência, em adolescentes e adultos jovens.<sup>(3,7,8,43)</sup> Contudo, é importante sublinhar que os doentes com elevado risco de MSC constituem uma pequena minoria da população com MCH.<sup>(3,43)</sup>

As taquiarritmias ventriculares complexas, iniciadas por um substrato miocárdico electricamente instável, têm sido reconhecidas como o mecanismo mais comum de MSC.<sup>(45,46)</sup> Um trabalho realizado com o objectivo de avaliar as principais alterações disrítmicas encontradas no Holter de 178 doentes com MCH, mostrou uma prevalência particularmente elevada de taquiarritmias ventriculares e supraventriculares nesta população.<sup>(45)</sup> Cerca de 88% dos doentes apresentaram despolarizações ventriculares prematuras (incluindo 12% com mais de 500 complexos), 42% *couplets* ventriculares, 37% taquicardia supraventricular e 31% taquicardia ventricular não-mantida.

De acordo com os dados disponíveis a maioria dos doentes com elevado risco de MSC podem ser identificados através de marcadores clínicos, uma vez que apenas um número muito reduzido (cerca de 3%) morre subitamente, na ausência destes factores de risco.<sup>(43)</sup>

Na definição do perfil de risco de MSC são considerados os seguintes marcadores: história de paragem cardíaca prévia por fibrilhação ventricular ou ocorrência de taquicardia ventricular mantida e espontânea; história familiar de morte súbita prematura relacionada com MCH, num familiar próximo ou no caso de múltiplas mortes na mesma família; episódios de taquicardia ventricular não-mantida (pelo menos 3 batimentos, com frequência superior ou igual a 120 batimentos por minuto) evidente no holter de 24h; síncope de etiologia não esclarecida, particularmente em indivíduos jovens, episódios recorrentes e relacionados com o esforço; resposta anormal da tensão arterial durante o esforço; presença de HVE severa ( $\geq 30$  mm), particularmente em indivíduos jovens. A identificação de um gene mutante de alto risco, bem como a evidência de fibrilhação auricular, isquémia miocárdica, obstrução da câmara de saída do VE e prática de exercício físico intenso deverão também ser considerados na estratificação individual do risco de MSC<sup>(6)</sup> (Tabela 2).

O valor preditivo positivo atribuído a cada um

Each of these risk factors has a low positive predictive value when considered in isolation, but in the presence of two or more factors the incidence of SCD approaches 3-5% (43), while the absence of any of them indicates an SCD risk of less than 1%.

When the risk is high, ICDs are the most effective and safest therapeutic option to prevent SCD<sup>(42-47)</sup>. Implantation of an ICD is unquestionably indicated in cases of secondary prevention of SCD, following cardiac arrest or with sustained ventricular tachycardia, and for primary prevention in the presence of multiple risk factors<sup>(6, 42, 47)</sup>. However, there is still considerable debate on whether to implant an ICD in patients with a single major risk factor, given the low positive predictive value of each marker in isolation. According to the ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death, ICD implantation is a class IIa indication in patients with HCM who have one or more major risk factor for SCD<sup>(47)</sup>.

A recent multicenter trial by Maron et al. involving 506 unrelated HCM patients studied the relation between clinical risk and incidence of sudden death, as well as the efficacy of ICDs<sup>(48)</sup>. The authors showed that implanted devices treated ventricular tachyarrhythmias frequently and effectively in 20% of the patients. The rate of appropriate interventions was 10.6% per year in secondary prevention and 3.6% per year in primary prevention. In the latter case, 35% of patients receiving appropriate shocks had only one SCD risk factor. No statistically significant differences were found between the rate of appropriate shocks in patients with 1, 2, or 3 or more risk factors (3.83, 2.65, and 4.82% per year, respectively;  $p=0.77$ ). The authors argue that the presence of a single major SCD risk factor may justify ICD implantation.

A conservative strategy, whereby only patients with more than one risk factor receive an ICD, will in fact fail to protect some patients at high risk of SCD. While we await new guidelines, the decision should be based on individual assessment of each patient, taking into consideration overall risk, age, the importance of the risk factor involved, the level of risk that is acceptable to the patient and his or her family, and potential complications arising from ICD implantation.

Tabela 2. Factores de risco de MSC em doentes com MCH<sup>(6)</sup>

Major	Avaliação individual
Paragem cardíaca (fibrilhação ventricular)	Fibrilhação auricular
Taquicardia ventricular mantida espontânea	Isquémia miocárdica
História familiar de morte súbita prematura	Obstrução da câmara de saída do VE
Síncope de etiologia não esclarecida	Mutação de alto risco
HVE $\geq 30$ mm	Exercício físico intenso (competição)
Resposta anormal da tensão arterial durante o esforço	
Taquicardia ventricular não-mantida (holter)	

dos factores de risco é baixo, quando considerados individualmente, no entanto, na presença de 2 ou mais factores, a incidência de MSC aproxima-se de 3% a 5%.<sup>(43)</sup> Em contraste, na ausência destes marcadores, os indivíduos apresentam baixo risco, com uma incidência anual de MSC inferior a 1%.

Na presença de elevado risco de MSC o CDI constitui a opção terapêutica mais eficaz e segura para a prevenção de MSC.<sup>(42-47)</sup> A implantação de CDI tem indicação indiscutível nos casos de prevenção secundária de MSC (doentes com paragem cardíaca prévia ou taquicardia ventricular mantida) ou em casos de prevenção primária, na presença de múltiplos factores de risco.<sup>(6,42,47)</sup> No entanto, a selecção de doentes com um único factor de risco *major* para implantação profiláctica de CDI continua a gerar grande discussão, tendo em conta o baixo valor preditivo positivo de cada marcador clínico. De acordo com as *guidelines* para abordagem de doentes com arritmias ventriculares e prevenção de morte súbita cardíaca, a implantação de CDI para prevenção primária em doentes com MCH tem indicação classe IIa, na presença de um ou mais factores de risco *major* de MSC.<sup>(47)</sup>

Recentemente, foi publicado um estudo multicêntrico, que envolveu 506 doentes com MCH não relacionados entre si, desenhado com o objectivo de estudar a relação entre o perfil de risco clínico do doente e a incidência, bem como a eficácia de actuação do CDI.<sup>(48)</sup> Maron et al mostraram que os dispositivos implantados apresentaram uma intervenção frequente e eficaz no tratamento de taquiarritmias ventriculares (20%). As taxas de intervenção apropriada foram de 10,6% por ano em prevenção secundária e 3,6% por ano em prevenção primária. Nos casos em que o CDI foi implantado para prevenção primária, 35% dos doentes com choque

## CONCLUSION

Hypertrophic cardiomyopathy is a primary disease of the sarcomere, with considerable genetic heterogeneity and variability in phenotypic expression, whose main complication is sudden cardiac death.

Detection of pathological mutations through progressive sequencing of the genes most frequently involved is the most efficient way to diagnose HCM, although genetic testing has been limited in clinical practice. The development of new and more sensitive, rapid and accessible techniques to screen for mutations would be a significant step forward in the diagnosis and treatment of the disease.

A better understanding of this pathology and safer patient management will depend on large-scale international studies of cohorts of patients and relatives with common phenotypic criteria, uniform follow-up procedures and the establishment of DNA banks.

apropriado apresentavam apenas um marcador de risco de MSC. Não se verificou diferença estatisticamente significativa na taxa de choques apropriados em doentes com 1, 2, e 3 ou mais marcadores de risco (3,83; 2,65; 4,82% por ano, respectivamente,  $p = 0,77$ ). Os autores defendem que a presença de um único marcador de alto risco de MSC pode ser suficiente para justificar a implantação de CDI.

De facto, a estratégia conservadora que preconiza a selecção de um doente para implantação de CDI apenas quando mais de um factor de risco está presente, seguramente deixa sem protecção alguns doentes com elevado risco de morte súbita. Enquanto se aguardam novas linhas de orientação, a decisão deverá ser baseada no julgamento individual de cada doente, tendo em conta o perfil global de risco, a idade, o impacto do factor de risco identificado, o nível de risco que é aceite pelo doente e pela família e as potenciais complicações relacionadas com a implantação de CDI.

## CONCLUSÃO

A miocardiopatia hipertrófica é uma doença primária do sarcómero, associada a grande heterogeneidade genética e variabilidade da expressão fenotípica, cuja principal complicação é a morte súbita.

A identificação de mutações patológicas

através da sequenciação progressiva dos genes mais frequentes constitui o método mais eficiente de diagnóstico, no entanto, a sua realização tem sido limitada na prática clínica. O desenvolvimento de novas tecnologias mais sensíveis, rápidas e acessíveis para o *screening* de mutações pode ser um avanço importante no diagnóstico e tratamento desta doença.

Para um melhor entendimento desta patologia e para uma abordagem mais segura destes doentes, torna-se premente a necessidade de realizar estudos internacionais em larga escala, constituídos por *coortes* de doentes e familiares com critérios fenotípicos comuns, procedimentos de *follow-up* uniformes e criação de bancos de DNA.

Pedidos de separatas para:

Address for reprints:

SÍLVIA REIS MONTEIRO

Serviço de Cardiologia

Hospitais da Universidade de Coimbra

Praceta Prof. Mota Pinto

3000-075 Coimbra

Tel: 239 400 400 / Tlm: 966556027

[silvia.reis.monteiro@gmail.com](mailto:silvia.reis.monteiro@gmail.com)

## BIBLIOGRAFIA / REFERENCES

1. Maron BJ, Gardin JM, Flack JM, Gidding SS, Kurosaki TT, Bild DE. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a general population of young adults. Echocardiographic analysis of 4111 subjects in the CARDIA Study. Coronary Artery Risk Development in (Young) Adults. *Circulation* 1995;92:785-9.
2. Maron BJ, Spirito P, Roman MJ, et al. Prevalence of hypertrophic cardiomyopathy in a population-based sample of American Indians aged 51 to 77 years (the Strong Heart Study). *Am J Cardiol* 2004;93:1510-4.
3. Maron BJ. Hypertrophic cardiomyopathy: a systematic review. *JAMA* 2002;287:1308-20.
4. Elliott P, McKenna WJ. Hypertrophic cardiomyopathy. *Lancet* 2004;363:1881-91.
5. Spirito P, Autore C. Management of hypertrophic cardiomyopathy. *BMJ* 2006;332:1251-1255.
6. Maron BJ, McKenna WJ, Danielson GK, Kappenberger LJ, Kuhn HJ, Seidman CE, et al. American College of Cardiology/European Society of Cardiology clinical expert consensus document on hypertrophic cardiomyopathy. A report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Clinical Expert Consensus Documents and the European Society of Cardiology Committee for Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:1687-13.
7. Maron BJ. Sudden death in young athletes. *N Engl J Med* 2000;349:1064-75.
8. Maron BJ. Distinguishing hypertrophic cardiomyopathy from athlete's heart: a clinical problem of increasing magnitude and significance. *Heart* 2005;91:1380-1382.
9. Richard P, Villard E, Charron P, Isnard R. The Genetic Bases of Cardiomyopathies. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:A79-89.
10. <http://cardiogenomics.med.harvard.edu/mutation-db.tcl>
11. Richard P, Charron P, Carrier L, et al. Hypertrophic cardiomyopathy: distribution of disease genes, spectrum of mutations, and implications for a molecular diagnosis strategy. *Circulation* 2003;107:2227-32.
12. Van Driest SL, Vasile VC, Ommen SR, et al. Myosin binding protein C mutations and compound heterozygosity in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1903-10.
13. Van Driest SL, Jaeger MA, Ommen SR, et al. Comprehensive analysis of the beta-myosin heavy chain gene in 389 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:602-10.

14. Erdmann J, Daehmlow S, Wischke S, et al. Mutation spectrum in a large cohort of unrelated consecutive patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Clin Genet* 2003;64:339-49.
15. Ingles J, Doolan A, Chiu C, Seidman J, Seidman C, Semsarian C. Compound and double mutations in patients with hypertrophic cardiomyopathy: implications for genetic testing and counseling. *J Med Genet* 2005;42:59.
16. Perrot A, Schmidt-Traub H, Hoffmann B, Prager M, et al. Prevalence of cardiac beta-myosin heavy chain gene mutations in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Med* 2005;83:468-477.
17. Zeller R, Ivandic BT, Ehlermann P, Mücke O, Zugck C, Rempis A, Giannitsis E, Katus HA, Weichenhan D. Large-scale mutation screening in patients with dilated or hypertrophic cardiomyopathy: a pilot study using DGGE. *J Mol Med* 2006;84:682-691.
18. Hayashi T, Arimura T, Itoh-Satoh M, et al. Tcap gene mutations in hypertrophic cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:2192-201.
19. Bos JM, Poley RN, Ny M, Tester DJ, et al. Genotype-phenotype relationships involving hypertrophic cardiomyopathy-associated mutations in titin, muscle LIM protein, and telethonin. *Molecular Genetics and Metabolism* 2006;88:78-85.
20. Vasile VC, Ommen SR, Edwards WD, Ackerman MJ. A missense mutation in a ubiquitously expressed protein, vinculin, confers susceptibility to hypertrophic cardiomyopathy. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;345:998-1003.
21. Vasile VC, Edwards WD, Ommen SR, Ackerman MJ. Obstructive hypertrophic cardiomyopathy is associated with reduced expression of vinculin in the intercalated disc. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;349:709-715.
22. Flashman E, Redwood C, Moolman-Smook J, Watkins H. Cardiac myosin binding protein C: its role in physiology and disease. *Circ Res* 2004;94:1279-89.
23. Olsson MC, Palmer BM, Stauffer BL, Leinwand LA, Moore RL. Morphological and functional alterations in ventricular myocytes from male transgenic mice with hypertrophic cardiomyopathy. *Circ Res* 2004;94:201-7.
24. Crilley JG, Boehm EA, Blair E, et al. Hypertrophic cardiomyopathy due to sarcomeric gene mutations is characterized by impaired energy metabolism irrespective of the degree of hypertrophy. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:1776-82.
25. Nagueh SF, Chen S, Patel R, et al. Evolution of expression of cardiac phenotypes over a 4-year period in the beta-myosin heavy chain-Q403 transgenic rabbit model of human hypertrophic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 2004;36:663-73.
26. Keller DI, Coirault C, Rau T, et al. Human homozygous R403W mutant cardiac myosin presents disproportionate enhancement of mechanical and enzymatic properties. *J Mol Cell Cardiol* 2004;36:355-62.
27. Vu Manh TP, Mokrane M, Georgenthum E, et al. Expression of cardiac myosin-binding protein-C (cMyBP-C) in *Drosophila* as a model for the study of human cardiomyopathies. *Hum Mol Genet* 2005;14:7-17.
28. Van Driest SV, Maron BJ, Ackerman MJ. From malignant mutations to malignant domains: the continuing search for prognostic significance in the mutant genes causing hypertrophic cardiomyopathy. *Heart* 2004;90:7-8.
29. Ackerman MJ, Van Driest SV, Ommen SR, et al. Prevalence and age dependence of malignant mutations in the beta-myosin heavy chain and troponin T gene in hypertrophic cardiomyopathy: A comprehensive outpatient perspective. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:2042-8.
30. Van Driest SV, Ackerman MJ, Ommen SR, et al. Prevalence and severity of "benign" mutations in the beta myosin heavy chain, cardiac troponin-T, and alpha tropomyosin genes in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2002;106:3085-90.
31. Woo A, Rakowski H, Liew J, et al. Mutations of the, myosin heavy chain gene in hypertrophic cardiomyopathy: critical functional sites determine prognosis. *Heart* 2003;89:1179-85.
32. Havndrup O, Bundgaard H, Andersen PS, Allan Larsen LA, Vuust J, Kjeldsen K, Christiansen M. Outcome of clinical versus genetic family screening in hypertrophic cardiomyopathy with focus on cardiac beta-myosin gene mutations. *Cardiovas Res* 2003;57:347-357.
33. Doolan A, Tebo M, Ingles J, Nguyen L, Tsoutsman T, Lam L, Chiu C, Chung J, Weintraub RG, Semsarian C. Cardiac troponin I mutations in Australian families with hypertrophic cardiomyopathy: clinical, genetic and functional consequences. *J Mol Cell Cardiol* 2005;38:387-393.
34. Varnava AM, Elliott PM, Baboonian C, Davison F, Davies MJ, McKenna WJ. Hypertrophic cardiomyopathy: histopathological features of sudden death in cardiac troponin T disease. *Circulation* 2001;104:1380-4.
35. Perkins MJ, Van Driest SL, Ellsworth EG, et al. Gene-specific modifying effects of pro-LVH polymorphisms involving the renin-angiotensin-aldosterone system among 389 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy. *Eur Heart J* 2005;26:2457-62.
36. Maron BJ, Seidman JG, Seidman CE. Proposal for contemporary screening strategies in families with hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:2125-32.
37. Ho CY, Seidman CE. A Contemporary Approach to Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation* 2005;112:293-296.
38. Sachdev B, Hamid MS, Elliott PM. The prevention of sudden death in hypertrophic cardiomyopathy. *Expert Opin Pharmacother* 2002;3:499-504.
39. Arad M, Benson DW, Perez-Atayde AR, et al. Constitutively active AMP kinase mutations cause glycogen storage disease mimicking hypertrophic cardiomyopathy. *J Clin Invest* 2002;109:357-62.
40. Arad M, Maron BJ, Gorham JM, Johnson WH Jr, Saul JP, Perez-Atayde AR, Spirito P, Wright GB, Kanter RJ, Seidman CE, Seidman JG. Glycogen storage diseases presenting as hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2005;352:362-372.
41. Charron P, Villard E, Sebillon P, et al. Danon's disease as a cause of hypertrophic cardiomyopathy: a systematic survey. *Heart* 2004;90:842-6.
42. Maron BJ, Shen WK, Link MS, Epstein AE, Almquist AK, Daubert JP, Bardy GH, Favale S, Rea RF, Boriani G, Estes NA, Spirito P. Efficacy of implantable cardioverter-defibrillators for the prevention of sudden death in patients with hypertrophic cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2000;342:365-373.
43. Elliott PM, Poloniecki J, Dickie S, Sharma S, Monserrat L, Varnava A, Mahon NG, McKenna WJ. Sudden death in hypertrophic cardiomyopathy: identification of high risk patients. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36:2212-2218.
44. Maron BJ, Estes NAM, III, Maron MS, Almquist AK, Link MS, Udelson JE. Primary prevention of sudden death as a novel treatment strategy in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation* 2003;107:2872-5.
45. Adabag AS, Casey SA, Kuskowski MA, Zenovich AG, Maron BJ. Spectrum and prognostic significance of arrhythmias on ambulatory Holter electrocardiogram in hypertrophic cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:697-704.
46. Adabag AS, Maron BJ. Implications of arrhythmias and prevention of sudden death in hypertrophic cardiomyopathy. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2007;12:171-80.
47. Zipes DP, Camm AJ, Borggrefe M, Buxton AE, Chaitman B, Fromer M, et al. ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death - executive summary. *Eur Heart J*. 2006;27:2099-140.
48. Maron BJ, Spirito P, Shen WK, Haas TS, Formisano F, Link MS. Implantable cardioverter-defibrillators and prevention of sudden cardiac death in hypertrophic cardiomyopathy. *JAMA*. 2007; 298:405-12.